



T.C.  
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***ALLIUM CEPA L. KÖK UCU MERİSTEM HÜCRELERİNDE  
MEYDANA GELEN GENOTOKSİK HASARA KARŞI *PHYSICIA  
TENELLA* LİKENİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ***

**İSMAİL DENİZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman: Doç. Dr. Mustafa KOCAKAYA**

**NİSAN – 2025**

**YOZGAT**

T.C.  
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***ALLIUM CEPA* L. KÖK UCU MERİSTEM HÜCRELERİNDE  
MEYDANA GELEN GENOTOKSİK HASARA KARŞI *PHYSCIA*  
*TENELLA* LİKENİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

İSMAİL DENİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Mustafa KOCAKAYA

Bu çalışma Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
(BAP) Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2024-1424 kodu ile  
desteklenmiştir.

NİSAN – 2025

YOZGAT

|                                                                                   |                                                                                                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p><b>YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ</b></p> <p><b>LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ</b></p> <p><b>LİSANSÜSTÜ TEZ ONAY FORMU</b></p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

T.C.

**YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

Enstitümüzün Biyoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı 70110314006 numaralı öğrencisi İsmail DENİZ'in hazırladığı “*Allium cepa* L. kök ucu meristem hücrelerinde meydana gelen genotoksik hasara karşı *Physcia tenella* likeninin koruyucu etkisinin değerlendirilmesi” başlıklı tezi ile ilgili tez savunma sınavı, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri gereğince 25/04/2025 Cuma günü saat 13:00'da yapılmış, tezin onayına oy birliği ile karar verilmiştir.

**Başkan** : .....

**Jüri Üyesi** : .....

**(Danışman)**

**Jüri Üyesi** : .....

**Jüri Üyesi** : .....

**Jüri Üyesi** : .....

**ONAY:**

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../..... tarih ve ..... sayılı Enstitü Yönetim Kurulu Kararı ile onaylanmıştır.

...../...../ 20.....

**İmza**

**Prof. Dr. Ümit BUDAK**

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü**

## TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan eder, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğini beyan ederim.

İsmail DENİZ

25/04/2025

## ÖN SÖZ

Tez çalışmam süresince araştırmalarımı yürütmemde verdikleri rehberlik ve sağladıkları bilgi birikimiyle büyük katkı sunan değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Mustafa KOCAKAYA'ya ve Sayın Prof. Dr. Dilek PANDIR'a içten teşekkürlerimi sunarım. Tez yazım sürecinde ve deneysel çalışmalarımda bilgi ve tecrübelerini benimle cömertçe paylaşan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ünsal BARAK'a, Uzman Biyolog İlayda ÜNAL'a, Uzman Biyolog Derya ER'e ve Uzman Biyolog Beyza Nur TANDOĞAN'a en içten teşekkürlerimi iletirim. Ayrıca lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, akademik birikimleri kadar insani ve ahlaki değerleriyle de bana örnek olan Biyoloji Bölümü'nün tüm değerli hocalarına şükranlarımı sunarım. Tüm bu süreçte maddi ve manevi desteğini her daim hissettiren aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması;

Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2024-1424 nolu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

İsmail DENİZ

25/04/2025

# ÖZET

## YÜKSEK LİSANS TEZİ

### ***ALLIUM CEPA* KÖK UCU MERİSTEM HÜCRELERİNDE MEYDANA GELEN GENOTOKSİK HASARA KARŞI *PHYSCIA TENELLA* LİKENİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

İSMAİL DENİZ

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. MUSTAFA KOCAKAYA

*Physcia tenella* likeni, çoğunlukla kireçli ortamlara uyum sağlamış olup kalkerli kayaçlar ve duvar yüzeylerinde yaygın olarak gözlemlenmektedir. Bu liken türü, kırsal alanlar, ormanlık bölgeler ve dağlık alanlar gibi habitatlarda geniş bir yayılım göstermektedir. Literatürdeki çalışmalar, *P. tenella*'nın hava kirleticileri ve diğer çevresel stres etmenlerine karşı belirli bir toleransa sahip olduğunu ortaya koymakta ve likenin biyokimyasal içeriğindeki aktif bileşenlerin farmasötik ve biyoteknolojik potansiyel taşıdığını vurgulamaktadır. Bu çalışmanın amacı, çeşitli hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) dozlarına karşı *P. tenella* likeninin koruyucu rolünü belirlemektir. Bu kapsamda, liken uygulamasının kök ucu meristem hücrelerindeki kromozomal bozulmalar, DNA yapısındaki değişiklikler ve hücre canlılığı üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. Araştırma sonucunda, *P. tenella* likeninin, *Allium cepa* bitkisinin kök ucu meristem hücrelerinde  $H_2O_2$  kaynaklı hasara karşı koruyucu bir özellik sergilediği ve bu koruyucu etkinin  $H_2O_2$ 'nin farklı konsantrasyonlarında gözlemlenebildiği tespit edilmiştir.

2025, xi + 28 Sayfa

**Anahtar Kelimeler:** *Physcia tenella*,  $H_2O_2$ , DNA Hasarı, Genotoksisite.

# **ABSTRACT**

## **MASTER THESIS**

### **EVALUATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF *PHYSCIA TENELLA* LICHEN AGAINST GENOTOXIC DAMAGE IN *ALLIUM CEPA* L. ROOT TIP GERM CELLS**

**İSMAİL DENİZ**

**YOZGAT BOZOK UNIVERSITY  
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES  
DEPARTMENT OF BIOLOGY**

**SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. MUSTAFA KOCAKAYA**

*Physcia tenella* lichen is mostly adapted to calcareous environments and is commonly observed on calcareous rocks and wall surfaces. This lichen species is widely distributed in habitats such as rural areas, woodlands and mountainous areas. Studies in the literature reveal that *P. tenella* has a certain tolerance to air pollutants and other environmental stressors and emphasize that the active components in the biochemical content of the lichen have pharmaceutical and biotechnological potential. The aim of this study was to determine the protective role of *P. tenella* lichen against various doses of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). In this context, the effects of lichen application on chromosomal disruptions, changes in DNA structure and cell viability in root tip meristem cells were analyzed. As a result of the study, it was determined that *P. tenella* lichen exhibited a protective property against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced damage in root tip meristem cells of *Allium cepa* plant and this protective effect could be observed at different concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

2025, xi + 28 Pages

**Keywords:** *Physcia tenella*, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, DNA Damage, Genotoxicity

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

|                                                                           |     |
|---------------------------------------------------------------------------|-----|
| TEZ BEYANI.....                                                           | iii |
| ÖN SÖZ.....                                                               | iv  |
| ÖZET.....                                                                 | v   |
| ABSTRACT .....                                                            | vi  |
| İÇİNDEKİLER.....                                                          | vii |
| TABLolar LİSTESİ .....                                                    | ix  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....                                                     | x   |
| SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ .....                                     | xi  |
| 1. GİRİŞ.....                                                             | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                   | 2   |
| 2.1. Hidrojen Peroksit .....                                              | 2   |
| 2.2. <i>Allium cepa</i> L. ....                                           | 4   |
| 2.3. Likenler .....                                                       | 5   |
| 2.4. <i>Physcia tenella</i> (Scop.) DC. ....                              | 7   |
| 2.5. <i>Physcia tenella</i> 'nın Morfolojik ve Kimyasal Özellikleri ..... | 8   |
| 3. GEREÇ ve YÖNTEM .....                                                  | 9   |
| 3.1. Likenin Toplanması.....                                              | 9   |
| 3.2. Likenin Ekstrakte Edilmesi.....                                      | 9   |
| 3.3. Liken Dozu Hazırlanışı .....                                         | 10  |
| 3.4. DNA Hasarının Tespiti: Komet Tekniği .....                           | 10  |
| 3.5. Kromozomal Bozulmanın Tespiti: Asetokarmin Boyama Yöntemi.....       | 11  |
| 3.6. Canlılık Testi.....                                                  | 122 |
| 4. BULGULAR.....                                                          | 133 |

|                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.1. Komet Testi Analiz Sonuçları.....                                   | 133 |
| 4.2. Kromozomal Bozulmanın Tespiti: Asetokarmin Boyama Yöntemi Sonuçları | 144 |
| 4.3. Canlılık Testi Yöntemi Sonuçları .....                              | 155 |
| 5. TARTIŞMA.....                                                         | 166 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....                                                | 211 |
| 7. KAYNAKLAR .....                                                       | 222 |



## TABLÖLAR LİSTESİ

### Tablo

### Sayfa

**Tablo 3.1.** *Phycia tenella* 'nın ekstrakte edilmesi.....9

**Tablo 3.3.2.** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve liken dozunun hazırlanışı.....10



## ŞEKİLLER LİSTESİ

| <u>Şekil</u>                                                                                                                                | <u>Sayfa</u> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Şekil 4.1. $H_2O_2$ + <i>P. tenella</i> ekstraktı uygulanmış <i>A. cepa</i> köklerinden alınan hücrelerde komet analizi.....                | 13           |
| Şekil 4.2. $H_2O_2$ + <i>P. tenella</i> ekstraktı uygulanmış <i>A. cepa</i> kök hücrelerindeki kromozom anomalisi.....                      | 14           |
| Şekil 4.3 $H_2O_2$ + <i>P. tenella</i> ekstraktı uygulanmış <i>A. cepa</i> köklerinin histokimyasal boya ile canlılığının gösterilmesi..... | 15           |



## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

| <b>Simgeler</b>                   | <b>Açıklamalar</b>             |
|-----------------------------------|--------------------------------|
| <b>µg</b>                         | : Mikrogram                    |
| <b>µl</b>                         | : Mikrolitre                   |
| <b>µM</b>                         | : Mikromolar                   |
| <b>mL</b>                         | : Mililitre                    |
| <b>cm</b>                         | :Santimetre                    |
| <b>Kısaltmalar</b>                | <b>Açıklamalar</b>             |
| <b><i>A. cepa</i></b>             | : <i>Allium cepa</i>           |
| <b>DNA</b>                        | : Deoksiribonükleik Asit       |
| <b>EDTA</b>                       | : Etilendiamintetraasetik Asit |
| <b>HCL</b>                        | : Hidroklorik Asit             |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | : Hidrojen Peroksit            |
| <b>MI</b>                         | : Mitotik İndeks               |
| <b><i>P. tenella</i></b>          | : <i>Phyrcia tenella</i>       |
| <b>SD</b>                         | : Standart Sapma               |
| <b>SCE</b>                        | : Kardeş Kromatid Değişimi     |
| <b>EtBr</b>                       | : Etidyum Bromür               |
| <b>dk</b>                         | : Dakika                       |
| <b>OS</b>                         | : Oksidatif stres              |
| <b>FUM</b>                        | : Fumarprotocetraric acid      |
| <b>ROS</b>                        | : Reaktif oksijen türevi       |

# 1. GİRİŞ

Doğal savunma mekanizmasına sahip organizmalar stres koşullarına karşı çeşitli savunma sistemi geliştirmiştir. Bu mekanizmalar arasında yer alan oksidatif stresle mücadelede likenlerin etkin rolü yapılan araştırmalar ile ispatlanmıştır. Likenlerden *P. tenella* türü, doğal olarak geliştirdiği savunma amaçlı ürettiği sekonder metabolitler biyolojik düzeyde stres uyarıcısı gibi faktörlere önemli bir koruma sağlar. Bu çalışmanın temel amacı, hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ ) oluşturduğu hasara karşı *P. tenella* likeninin gösterdiği koruyucu etkiler ile hidrojen peroksitin *Allium cepa* üzerindeki toksik edici etkilerinin azaltılmasıdır.

Çalışmada *A. cepa* kök meristem hücreleri üzerinde yapılan deneylerle *P. tenella* likeninin hidrojen peroksitin oluşturduğu hasarlara karşı gösterdiği koruyucu etki morfolojik olarak, DNA hasarı ve kromozomal bozulmalar araştırılarak ortaya konulmuştur. Kök ucu meristem hücreleri, yüksek düzeyde hücre bölünmesi ve DNA sentezi göstermeleri nedeniyle genetik hasarın incelenmesi açısından önemli bir model sistem oluşturmaktadır. Bu doğrultuda, hidrojen peroksit gibi reaktif moleküllerin genotoksik etkilerinin araştırılması, doğada bulunan biyokimyasal savunma mekanizmalarının değerlendirilmesi bakımından kritik bir öneme sahiptir. *P. tenella* likeninin farklı konsantrasyonlarının hidrojen peroksit hasarına karşı gösterdiği koruyucu etkiler detaylı bir şekilde değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile Canlılık testi, Komet testi ve Kromozomal bozulma testleri ile etkiler ortaya konulmuştur.

Araştırma sürecinde *A. cepa* kök ucu hücrelerinin hidrojen peroksite maruz bırakılması sonucunda gözlemlenen genotoksik etkiler, *P. tenella* likeninin koruyucu potansiyelinin değerlendirilmesiyle anlamlı bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Elde edilen bulgular, likenin genetik hasarı azaltmadaki etkinliğini ortaya koyarken, stres koşullarına karşı savunma mekanizmalarını destekleyen özellikleride vurgulamıştır. Araştırma sonuçları, doğal biyoaktif maddelerin genetik stabilite üzerindeki etkilerini anlamak açısından da önemli katkılar sunmaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), güçlü bir oksitleyici ajan olup dezenfektanlarda, kozmetik ürünlerde, ağartıcılarda, diş macunlarında, kumaş temizleyicilerinde ve deterjanlar gibi çeşitli endüstriyel ürünlerde yaygın bir kullanıma sahiptir (Goyal vd., 2022). Bunun yanı sıra, aşınma etkileri ile lipid peroksidasyonunu tetikleyebilecek oksijen gazı salınımı gibi etkiler gözlenebilir (Jaganjac vd., 2021). Bu özellikleri nedeniyle hidrojen peroksitin biyolojik sistemlerdeki etkilerini anlamaya yönelik çalışmalar, potansiyel zararlarını ve bu sistemlerdeki rolünü açığa çıkarmak açısından önemlidir (Kotha vd., 2022).

Hidrojen peroksit, bitkilerde ve diğer organizmalarda metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan ve hücrel stres ile ilişkilendirilen bir bileşiktir. Yüksek konsantrasyonlarda hidrojen peroksit maruziyeti, bitki hücrelerinde oksidatif hasara yol açabilmektedir. Özellikle kök ucu meristem hücrelerine etki ederek, hücre bölünmesini, büyümesini ve farklılaşmasını olumsuz yönde etkiler. Hidrojen peroksitin kök ucu meristem hücrelerine verdiği zarar, DNA hasarı, protein bozulması ve hücrel membran hasarı gibi etkiler çeşitli mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşmektedir (Piatnytskyi ve Volkov, 2023). Hidrojen peroksitin kök ucu meristem hücrelerine verdiği zarar, bitkinin genel büyümesini ve gelişimini etkileyebilmektedir. Kök ucu meristem hücrelerinin sağlıklı ve verimli bir şekilde çalışması, bitkinin topraktan su ve besin maddelerini emmesi ve büyümesi için önemlidir. Dolayısıyla, hidrojen peroksitin bu hassas hücrelere verdiği zarar, bitki büyümesi ve verimliliği üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (Sen ve Imlay, 2021). Hidrojen peroksit, *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerine zarar verebilecek potansiyel bir toksik maddedir. Bu nedenle, bitki yetiştiricileri ve araştırmacılar, bitkilerin bu tür stres faktörlerine karşı hassaslığını anlamak ve korumak için çalışmalarını sürdürmektedirler. Hidrojen peroksit biyolojik sistemlerde çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir rol oynayan reaktif bir oksijen türüdür. Son yıllarda, hidrojen peroksitin biyolojik sistemler üzerindeki etkilerini anlamak amacıyla bir dizi akademik çalışma yapılmıştır. (Kwon vd., 2015). Bu çalışmalar, hidrojen peroksitin hücrel sinyalleme, stres cevabı, antioksidan savunma sistemi ve hastalık patofizyolojisi gibi çeşitli yönlerini araştırmışlardır. (Kwon vd., 2015). Biyolojik sistemlerde stres cevabı mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalar, hidrojen peroksitin hücrelerin antioksidan savunma sistemini uyurabileceğini göstermektedir (Kwon vd., 2015). Bununla birlikte, aşırı

hidrojen peroksit üretimi veya birikimi durumunda hücrelerde oksidatif hasara yol açabileceği bilinmektedir. Hidrojen peroksidin hastalık patofizyolojisi üzerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmalar, bu bileşiğin inflamasyon, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalıkta rol oynayabileceğini öne sürmektedir (Ajila ve Rao, 2008).

Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), organizmaya dış çevreden alınabileceği gibi; kuraklık, düşük sıcaklık, ultraviyole (UV) ışınlarla maruz kalma, yüksek ışık şiddeti ve patojen aktivasyonu gibi stres koşulları altında da oluşabilir. Bununla birlikte, hücre içerisinde kloroplast, mitokondri, endoplazmik retikulum gibi organellerde; plazma zarındaki elektron taşıma sistemi ve fotorespirasyon süreci sırasında endojen olarak sentezlenmektedir. (Sharma vd., 2012). Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), son derece reaktif bir oksidan olup hücredeki çeşitli biyolojik makromoleküllere zarar verebilecek yüksek oksitleyici potansiyele sahiptir (Halliwell, 2006). Hidrojen peroksidin ( $H_2O_2$ ) genotoksik ve sitotoksik etkileri; maruz kalınan konsantrasyona, etki ettiği doku ya da hücresel bölgeye ve etki süresine bağlı olarak değişiklik gösterebilmekte, bu nedenle organizmalardaki toksisite düzeyi farklılık arz edebilmektedir (Gechev ve Hille, 2005).

Hidrojen peroksidin ( $H_2O_2$ ) uzun yarı ömrü ve küçük moleküler yapısı, hücresel zarları geçmesine ve hücre içi farklı bölgeler arasında serbestçe taşınmasına olanak tanımaktadır. Lipidlerde çözünebilen  $H_2O_2$ , biyolojik membranlardan geçerek hücre içerisine veya hücreler arası alanlara difüzyon yoluyla ya da su kanalları aracılığıyla taşınabilmekte ve bu yolla hücresel hasara neden olabilmektedir. Ayrıca DNA üzerinde de hasar oluşturabilmekte; bu hasarlar arasında baz modifikasyonları ve nükleik asit ipliklerinde kopmalar yer almaktadır (Plaine, 1955).

Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), enzim inhibisyonuna ve birçok biyolojik makromolekülün bozulmasına yol açmaktadır. Özellikle lipid peroksidasyonu ile birlikte şeker ve proteinlerin oksidasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Özcan vd., 2015). Hücresel düzeyde nekroz ve apoptoz gibi programlı veya program dışı hücre ölümüne sebep olabilmektedir. Yapılan çalışmalar, düşük konsantrasyonlardaki  $H_2O_2$ 'nin apoptozu tetiklerken yüksek konsantrasyonlarda ise nekroza neden olduğunu ortaya koymuştur (Lennon ve Cotter, 1991).

## 2.2. *Allium cepa* L.

*Allium cepa* L. (soğan bitkisi), büyüme oranlarının ve kimyasal sistemlerinin *in vitro* zararın belirlenmesi için yaygın olarak kullanılan bir model organizmadır. Özellikle mitotik indeks, kök büyümesi ve kromozom yapısındaki değişiklikler bu bitki ile kolaylıkla incelenebilmektedir. *A. cepa*, toksikolojik araştırmalarda kimyasal ajanların biyolojik etkilerini ortaya koyabilmek için önemli kullanılan önemli bir test organizmadır (Gadano vd., 2002).

Bitki kökleri, biyolojik incelemeler için oldukça uygun model sistemlerdir. Doğal ortamlarında toprak ve suyuyla yayılan çeşitli kimyasal ajanlara doğrudan maruz kalmaları, onları toksikolojik ve fizyolojik çalışmalar açısından değerli bir biyolojik materyal hâline getirmektedir. Bu kimyasalların etkilerini değerlendirmek amacıyla sıklıkla kök ucu sistemi kullanılmakta, hızlı büyüme gösteren kökler üzerinde makroskobik ve mikroskobik düzeyde gerçekleştirilen analizlerle hücresel düzeyde niteliksel ve niceliksel veriler elde edilebilmektedir (Tkachuk ve Zelena, 2022).

1980’li yıllardan itibaren *Allium cepa* bitkisi, deneysel çalışmalarda model organizma olarak kullanılmaya başlanmıştır; Grant’ın gerçekleştirdiği kapsamlı literatür çalışmaları doğrultusunda, ABD Çevre Koruma Ajansı’nın (EPA) Genotoksisite Programı raporunda, kimyasalların yol açtığı kromozomal hasarın değerlendirilmesinde *Allium* testinin rutin olarak kullanılan yöntemler arasında yer almasına katkı sağlamıştır. Günümüzde *Allium* testi, birçok laboratuvarında yaygın olarak bilinen ve uygulanan bir yöntem hâline gelmiştir. Geniş bir uygulama alanına sahip olan bu test, çevre kirliliğinin belirlenmesinde etkili bir biyolojik gösterge olarak kullanılmakta ve çevresel kirlleticilerin zararlı etkilerini ortaya koymak amacıyla *in vivo* bir model sistem olarak tercih edilmektedir. *A. cepa* kök sistemi; açık ve sabit kromozom sayısına sahip olması, mitotik evrelerin mikroskobik olarak net şekilde gözlemlenebilmesi, kimyasal etkilere hızlı ve hassas tepki verebilmesi, kromozom morfolojisindeki çeşitlilik ve etkisiz koşullarda kromozomal hasarın nadir görülmesi gibi özellikleriyle bu tür çalışmalar için son derece uygundur. Ayrıca, düşük maliyetli olması nedeniyle *A. cepa* testi, genetik materyal üzerinde kırılma, kopma veya mutajenik etkilerin değerlendirilmesinde önemli bilgiler sağlayan etkili bir biyoindikatör sistem olarak öne çıkmaktadır (Grant, 1982).

Allium testi, bitkisel bir model organizma olan *A. cepa* bitkisinin kullanıldığı bir dizi biyolojik testi ifade eder. Bu testler genellikle çevresel toksisiteyi belirlemek, çevresel kirleticilerin ve potansiyel kanserojen maddelerin etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan deneylerdir. Bu testlerde, popüler bir model organizma olarak *A. cepa* sıklıkla kullanılır çünkü kolaylıkla yetiştirilebilir, hızlı büyür ve hücrelerinin büyüme ve bölünme süreçleri görsel olarak izlenebilmektedir. *A. cepa* kök ucu meristem hücreleri, bitki büyümesi ve gelişimi için hayati öneme sahip olan hücrelerdir. Bu hücrelerin zarar görmesi, bitkinin büyümesini ve sağlıklı gelişimini etkileyerek, bu hassas hücreler üzerinde zararlı etkilere neden olabilmektedir (Tedesco ve Laughinghouse, 2012; Soodan vd., 2015).

*A. cepa* bitkisi geçmişten günümüze kadar toksisitenin izlenmesi, kromozomal anormalliklerin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Fiskesjö, 1985). *A. cepa* çimlendirildikten sonra kökleri belirli doza maruz bırakılır. Kimyasal maddelerin bitkilere etki etmesi sonucu bitkilerin mitoz evresinde kromozomlarında bazı anomaliler gerçekleşir. Bu anomaliler metafazda kromozomların dağılmış olması (C-Mitoz), Kromozomların normalden daha kısa ve kalın olması (Kalın Kromozom), Metafaz tablasında bulunan kromozomlardan ayrı bir grup kromozomun oluşması (İğ Yarılması), İğ yarılması sonucunda kromozomların iki den fazla kutba çekilmesi sonucu oluşan anafaz ve telofaz (Multipolar Anafaz ve Telofaz) gibi bazı kromozom anormalleri tespit edilir (Bianchi vd. 2016).

### 2.3. Likenler

Likenler, mikobiyont adı verilen bir mantar ile fotobiyont olarak görev yapan fotosentetik yeşil alg ve/veya siyanobakterilerden oluşan, sürekli ve ototrofik bir mutualistik yaşam formudur. Bu simbiyotik ilişkide, mikobiyontun birliktelikten daha fazla yarar sağladığı, buna karşın algin serbest yaşam formlarına kıyasla daha zayıf gelişim gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle, günümüzde liken birlikteliği klasik anlamda bir mutualizmden ziyade, kontrollü bir parazitizm örneği olarak da değerlendirilmektedir (Ahmadjian, 1993). Liken birlikteliklerinde mikobiyont (mantar), yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmek, büyümek ve üremek için gerekli olan karbon kaynağını fotobiyonttan (alg) temin ederken fotobiyont ise fotosentez için gerekli olan su ve mineral maddeleri mikobiyont aracılığıyla sağlar (Nash, 1996; Dayan ve Romagni, 2001). Son yıllarda, özellikle biyoteknoloji alanında alternatif bir biyolojik organizma kaynağı olarak tercih edilen likenler, kök sistemi ve kutikula tabakasının bulunmaması nedeniyle, çevresel kirleticileri önemli ölçüde biriktirme

kapasitesine sahip biyolojik organizmalar olarak öne çıkmaktadır. Bu özellikleri, likenlerin çevresel streslere karşı yüksek derecede tolerans gösterebilmelerini sağlamaktadır. Ayrıca likenler, genellikle sadece bu organizmalara özgü olan ve 'liken maddeleri' olarak bilinen çeşitli organik ve inorganik metabolitleri hücrelerinede üretebilmektedirler. (Cantoni vd., 1989). Likenlerin yapısına katılan alg ve mantar cinsleri tespit edilmiş olup, *Cyanobacteria* ve *Chlorophyta*'ya ait cinsler yapıya katılmakta, mantarlardan da çoğunlukla *Ascomycetes* ve nadir olarak *Basidiomycetes*'e ait cinsler yapıya katılmaktadır. Türkiye'den bilinen likenleşmiş mantar sayısı 1300 civarındadır. (Ahmadjian, 1995).

Ototrofik algler ile mantar hiflerinin bir araya gelerek tabakalar halinde oluşturduğu yapılar, kök ve kutikula tabakasından yoksun, uzun ömürlü ve yavaş büyüyen ortak bir "tallus" meydana getirir (Ahmadjian, 1995). Yapıya dahil olan mantar ve alg türleri, yalnızca tallustan kesit alınıp mikroskopik inceleme yapıldığında belirlenebilir (Hale, 1990).

Liken birlikteliğinde mantar ve alg ortakları birbirinden karşılıklı fayda sağlarlar. Mantar ortağı alg ortağının fototsentez yapması için gerekli olan karbondioksit ve suyu temin eder. Alg ortağı ise fotosentez sonucunda elde edilen besin ve oksijeni sağlar (Demmig vd., 1990)

Likenler, çoğunlukla ışık yoğunluğunun fazla olduğu ortamlarda yaşarlar. Işık yoğunluğunun fotobiyontun fotosentez sistemine zarar vermesini engellemek amacıyla, mantarlar parlak sarı, turuncu, gri ve kırmızı renkte metabolitler üretir. Bu metabolitler, aynı zamanda likenlerin farklı çevresel koşullara adaptasyon yeteneklerini de artırır (Blanco vd., 2006).

Likenler, dünyanın karasal ekosistemlerinin büyük bir kısmında geniş yüzey alanlarına sahip olup aynı zamanda su kıyısında da uzun yıllar boyunca yaşamlarını sürdürebilirler. Likenler, yaşadıkları habitatlar hakkında değerli bilgiler sunar. Yüksek sıcaklık ve kuraklık gibi olumsuz çevresel şartlara dayanabilen organizmalardır. Ayrıca bazı hassas liken türleri hava kirliliği gibi olumsuz koşullarda fotobiyontlarının zarar görmesi nedeniyle hayatta kalamazlar (Øvstedal ve Smith, 2001).

Likenler, yaşadıkları çevre koşulları ve birlikte bulundukları bitkilerin durumlarına göre morfolojik olarak üç gruba ayrılır. Kabuksu (crustose) likenler, ince ve yassı talluslara sahip olup substratlarına hiflerini yerleştirerek endolitik (taş içi) likenler olarak tanımlanırlar. Yapraksı (foliose) likenler, loblu veya küçük talluslara sahip olup genellikle toprak üstü

ortamlarda bulunurlar ve substratlarına renksiz, tüysü emici hifler uzatırlar. Dalsı-çalımsı (fruticose) likenler ise dik talluslara sahip olup, çoğunlukla ağaçlardan sarkar ve morfolojik olarak büyük yapılar oluştururlar (Printzen, 2009).

Likenler, dünya genelinde yüzlerce yıl boyunca yalnızca hastalıkların tedavisinde değil, aynı zamanda hayvansal besin, parfüm, alkol üretimi, boya, zehir ve dekorasyon gibi pek çok farklı alanda da kullanılmıştır. Eski çağlarda, likenlerin şekillerine dayanarak tedavi yöntemleri geliştirilmişken 20. yüzyıldan itibaren laboratuvar tekniklerindeki ilerlemelerle birlikte, likenlerin mikrobiyolojik ve farmakolojik özellikleri daha ayrıntılı bir şekilde araştırılmaya başlanmış ve bu sayede pek çok hastalığın tedavisinde önemli katkılar sağlanmıştır (Bhagarathi vd., 2023).

#### **2.4. *Physcia tenella* (Scop.) DC.**

*P. tenella* (Scop.) DC. liken türüne ilişkin yapılan akademik çalışmalar, bu liken türünün ekolojik ve biyokimyasal özelliklerini anlamak, çevresel değişikliklere olan tepkilerini değerlendirmek ve potansiyel farmasötik veya biyoteknolojik uygulamalarını keşfetmek amacıyla yürütülmüştür. (Kachinskaya, 2015; Dresler vd., 2021). Araştırmalar, *P. tenella*'nın genellikle kireçli ortamları tercih ettiğini ve bu nedenle kalkerli kayalarda veya duvarlarda daha sık bulunduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, bu liken türünün genellikle kırsal alanlarda, ormanlarda ve dağlık bölgelerde yaygın olduğu belirlenmiştir. (Kachinskaya, 2015; Dresler vd., 2021). Bunun yanında, bu likenin havadaki kirleticilere ve diğer çevresel streslere karşı belirli bir toleransa sahip olduğu da saptanmıştır. Bazı çalışmalar, *P. tenella*'nın biyokimyasal içeriğini inceleyerek içerdiği aktif bileşenlerin farmasötik veya biyoteknolojik potansiyelini ortaya koymuştur. Özellikle bu liken türünde bulunan bazı bileşenlerin antimikrobiyal veya antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Kachinskaya, 2015; Dresler vd., 2021).

*P. tenella*, kalkerli kayaları da içeren zengin substratları tercih etmekle birlikte, çoğunlukla ağaç kabuğu üzerinde bulunur. Bu liken türü, yükseklik artışına tepki olarak bolluğu artan öncü bir tür olarak kabul edilmektedir. Azotlu bileşiklerin seviyelerine olan duyarlılığı, Antartika'da bildirilen *P. caesia* ve *P. dubia* gibi diğer türlerden farklılık gösterir. *P. dubia*, marjinal kirpikli ve yükseltici tallusun varlığı ile ayırt edilirken, *P. caesia* daha geniş loblara ve K<sup>+</sup> sarı reaksiyonu gösteren kimyasal bir profile sahiptir. *P. tenella*'ya en çok benzeyen

türlerden biri *P. adscendens*'tir; ancak bu tür, miğfer şeklinde soralıya varlığı ile farklılaşır (Edwards ve Coppins, 2009).

## 2.5. *Physcia tenella*'nın Morfolojik ve Kimyasal Özellikleri

*P. tenella*, ince ve küçük loblu gri-yeşil bir üst yüzeye sahip olmasıyla dikkat çeker. Üst yüzey, algler ve siyanobakterilerin simbiyotik olarak yer aldığı bir yapıdır. Bu fotosentetik organizmalar, mantar hücreleri için organik karbon sağlar. Tür hem eşeyli hem de eşeysiz üreme stratejilerine sahiptir. Apoteysiler, türün genetik çeşitliliğini artıran ve yeni koloniler oluşmasına olanak tanıyan yapılar olarak öne çıkar. Kahverengi veya siyah renkte olan bu yuvarlak yapılar, üst yüzeyde belirgin bir şekilde yer alır (Culberson, 1972).

Kimyasal yapısı, *P. tenella*'yı özellikle biyoteknolojik ve farmasötik araştırmalar için cazip kılmaktadır. İkincil metabolitler açısından oldukça zengin olan tür, depsidonlar, depsidler ve usnik asit gibi bileşenler içerir. Bu metabolitlerin, çevresel streslere karşı savunma mekanizmalarında önemli rol oynadığı bilinmektedir. Örneğin, usnik asit ultraviyole ışınlarla maruz kalma durumunda koruyucu bir tabaka oluşturarak hücre yapılarının zarar görmesini engeller. Aynı zamanda antimikrobiyal ve antioksidan özellikler sergileyerek biyoteknolojik ve farmasötik uygulamalarda kullanım potansiyeline sahiptir (Purvis vd., 1992).

*P. tenella*'nın morfolojik ve kimyasal özellikleri, sadece simbiyotik yaşamının devamlılığını sağlamakla kalmaz, aynı zamanda değişen çevresel koşullara uyum sağlamasına da yardımcı olur. Bu türün ekosistem içindeki rolü ve çevresel stres faktörlerine dayanıklılığı, onu ekolojik çalışmalarda önemli bir model tür hâline getirmiştir. Ayrıca, biyokimyasal bileşenleri sayesinde çeşitli tıbbi ve endüstriyel uygulamalara katkı sunma potansiyeline de sahiptir. Bu özellikleri, *P. tenella*'yı çok yönlü bir araştırma konusu olarak öne çıkarmaktadır.

Bu çalışmada, hidrojen peroksitin neden olduğu oksidatif hasara karşı *P. tenella* likeninin koruyucu rolü, *A. cepa* bitkisi kullanılarak araştırılmıştır. Deneyler kapsamında, *P. tenella* likeninin toksik hasara karşı etkisi komet testi, asetokarmin boyama yöntemi ve hücre canlılık testleri ile analiz edilmiştir.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Likenin Toplanması

*Physcia tenella* liken örneği 22.09.2024 tarihinde Yozgat Çamlık Milli Parkı'ndan 39° 48' 18" K 34° 48' 38" D koordinatlarından 1500 metre rakımdan toplanmıştır. Örnekler Yozgat Bozok Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Liken Herbaryumunda muhafaza edilmektedir.

#### 3.2. Likenin Ekstrakte Edilmesi

Liken örneği, 10 g ağırlığında alınıp, havanda tamamen toz haline gelene kadar ezilmiştir. Ardından toz halindeki likenler, %70 metanol ile Kocakaya ve arkadaşlarının (2021) önerdiği ekstraksiyon metoduna uygun olarak işlenmiştir. Elde edilen sıvı, süzildükten sonra döner buharlaştırıcıda, azaltılmış basınç altında yoğunlaştırılmıştır. Kuru ekstraktlar, deneyler yapılana kadar -20 °C'de depolanmıştır. Ekstraktlar, testler için steril bir ortamda %70'lik alkolle çözülmüş ve çözeltinin gerekli yoğunluğu, besi yeri kullanılarak ayarlanmıştır. Plaka yüzeyinde temiz bir görünüm elde etmek ve partikül kirlenmesini engellemek amacıyla hazırlanan liken çözeltisi 0,22 mikronluk filtre ile süzülerek incelenmeye alınmıştır (Kocakaya vd., 2022).

**Tablo 3.1.** Liken Ekstrakte Edilmesi

| STOK | 2000 µg /ml                                                                                                                                                                                                          |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1-)  | 2000 ug. V1=200 µg. 225mL                                                                                                                                                                                            |
| 2-)  | 22,5 mL stoktan alınır, 177,5 dH <sub>2</sub> O eklenir.<br>Not: Liken dozu üzerine yarısı kadarda<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> eklendiğinde için 200 µg lık çözelti<br>100 µg olacak şekilde seyreltilmiş olur. |

### 3.3. Liken Dozu Hazırlanışı

**Tablo 3.2.** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve Liken Dozunun Hazırlanışı

| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>Hazırlanışı | 1 mol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> stok<br>çözeltisi için | %37'lik H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> içerisinden<br>1,02 µl alınır, | 10 µl tamamlanır.               |
|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| 1-)                                          | 200 µM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisi<br>için     | 1000 µM * V <sub>1</sub> =200 µM*50 µl                               |                                 |
| 2-)                                          | 100 µM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisi<br>için     | 25 µl, 200 µM den alınır.                                            | 25 µl dH <sub>2</sub> O eklenir |
| 4-)                                          | 50 µM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisi<br>için      | 25 µl, 100 µM den alınır.                                            | 25 µl dH <sub>2</sub> O eklenir |
| 5-)                                          | 25 µM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisi<br>için      | 25 µl, 50 µM den alınır.                                             | 25 µl dH <sub>2</sub> O eklenir |
| 6-)                                          | 10 µM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisi<br>için      | 25 µl, 20 µM den alınır.                                             | 25 µl dH <sub>2</sub> O eklenir |
| 7-)                                          | 5 µM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>Çözeltisi için       | 25 µl, 10 µM den alınır.                                             | 25 µl dH <sub>2</sub> O eklenir |
| 8-)                                          | 1 µM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>Çözeltisi için       | 25 µl, 5 µM den alınır.                                              | 25 µl dH <sub>2</sub> O eklenir |

### 3.4. DNA Hasarının Tespiti: Komet Tekniği

1) Örnekler 1 cm uzunluğunda kesilerek küçük parçalar halinde porselen kroze içerisine koyulur. Örneklerin üzerine 2000 µl FTT ilave edip manyetik karıştırıcıda hücrelerin sıvıya geçmesi sağlanır.

2) Örnekler 20 dk. 4 °C'de buzdolabında inkübe edilir.

3) İnkübasyonun ardından her bir örnek temiz bir behere şırınga süzek yardımıyla süzülür böylece FTT ile soğan kök uçları ayrılır.

- 4) Mikrodalgada ısıtılan 0,65'lik Agaro'z'dan 300 µl, daha önce süzülmüş örnekten 100 µl alınarak hızlı bir şekilde pipet edilir ve lam üzerine yayılarak lamel ile kapatılır.
- 5) Agaro'z ile kapatılan lamlar donması için 4 °C buzdolabında inkübe edilir.
- 6) Lamlar buzdolabından çıkartılıp üzerindeki lameller yavaşça sıyrılır ve 5 dk lizis bekletilir.
- 7) Lizis solüsyonundan çıkarılan örnekler 5 dk ön elektroforez solüsyonunda bekletilir.
- 8) Ön elektroforez solüsyonundan çıkan örnekler elektroforez tankına yerleştirilerek 250 Volt, 4 dk süreyle elektroforez işlemi yapılır.
- 9) Elektroforez tankından çıkan örnekler saf su içerisinde 3-4 dk bekletildikten sonra kurutma kâğıdının üzerine serilerek oda sıcaklığında 10 dk kurumaya bırakılır.
- 10) Örneklerin üzerine 80-100 µl seyreltik EtBr boyası damlatıldıktan sonra 10 dk bekletilir ve ardından floresan mikroskobunda lamlar incelenir. Elde edilen sonuçların görselleştirilmesi için BAP Pro programında görüntüler çekilir ve DNA kuyruk uzunluğu, momentleri hesaplanır (Özkan vd., 2009).

### **3.5. Kromozomal Bozulmanın Tespiti: Asetokarmin Boyama Yöntemi**

Boyanın Hazırlanması:

a-) dH<sub>2</sub>O-----55 µl

b-) Asetik asit-----45 µl

c-) Karmen boyası-----1 gr

- 1) İlk aşamada 1 cm uzunluğunda kesilmiş soğan kök ucu parçaları, steril bir petri kabına yerleştirilir ve üzerine onları kaplayacak kadar asetokarmin boyası plastik pipet ile damlatılır.
- 2) Petri kaplar tahta tutacak ile tutularak eğik bir şekilde daha önceden 250 °C ye ısıtılmış manyetik ısıtıcı üzerinde ısıtıcıya değmeyecek şekilde 5 dk süreyle ısıtılır.
- 3) Petri kapları ısıtıcıya değmeyecek ve içerisindeki asetokarmin boyası kaynamayacak şekilde manyetik karıştırıcı üzerinde uygun mesafede tutulmalıdır.

- 4) Kök uçları pens ile kök sonlarından tutulacak şekilde lam üzerine 1 veya 2 tane gelecek şekilde alınır ve üzerine plastik pipet ile 1-2 damla asetokarmin boyasından damlatılarak lamel ile kapatılır.
- 5) Kapatılan preparat üzerine tahta kalemin tersi ile yavaş yavaş vurularak kökün parçalanması ve yayılması sağlanır.
- 6) Ezildikten sonra preparat içerisindeki boya hızlı kuruduğu için görüntülerin 1 saat içinde ışık mikroskobunda bakılarak çekilir (Fiskesjö, 1985).

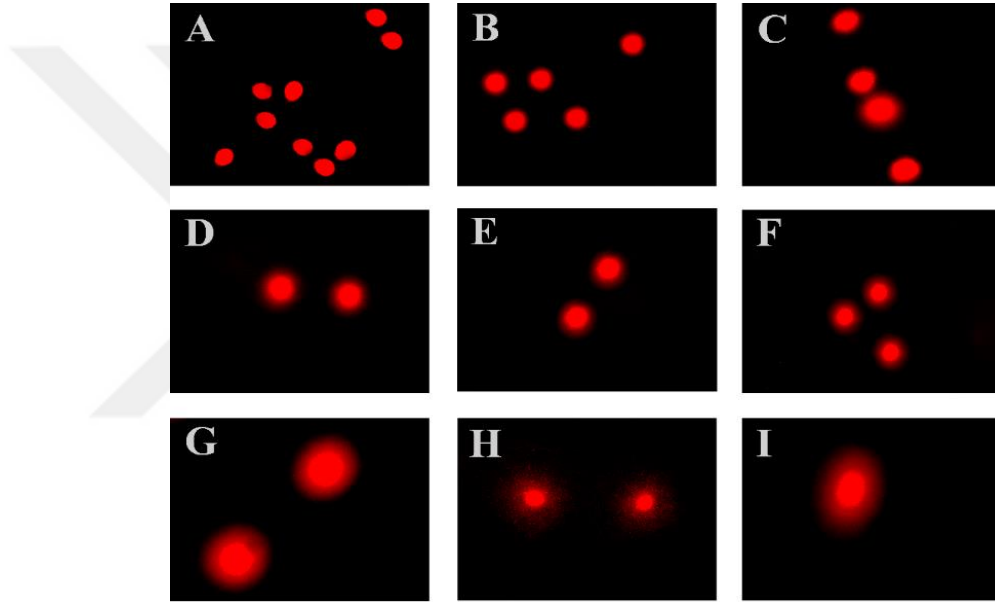
### **3.6. Canlılık Testi**

Kontrol ve uygulama gruplarından 24, 48 ve 72 saat olmak üzere soğan köklerinden eşit ölçülerde kök örnekleri alınır. Alınan kök örnekleri petri kapları içerisine konularak üzerlerine Evans Blue boyası eklenir. 15 dk boyama gerçekleştirilir. Boyayı absorblayan kökler ışık mikroskobunda yan yana görüntüleri alınarak doza bağlı olarak değişen hücre canlılığı belirlenir (Jacyn Baker ve Mock, 1994).

## 4. BULGULAR

### 4.1. Komet Testi Analiz Sonuçları

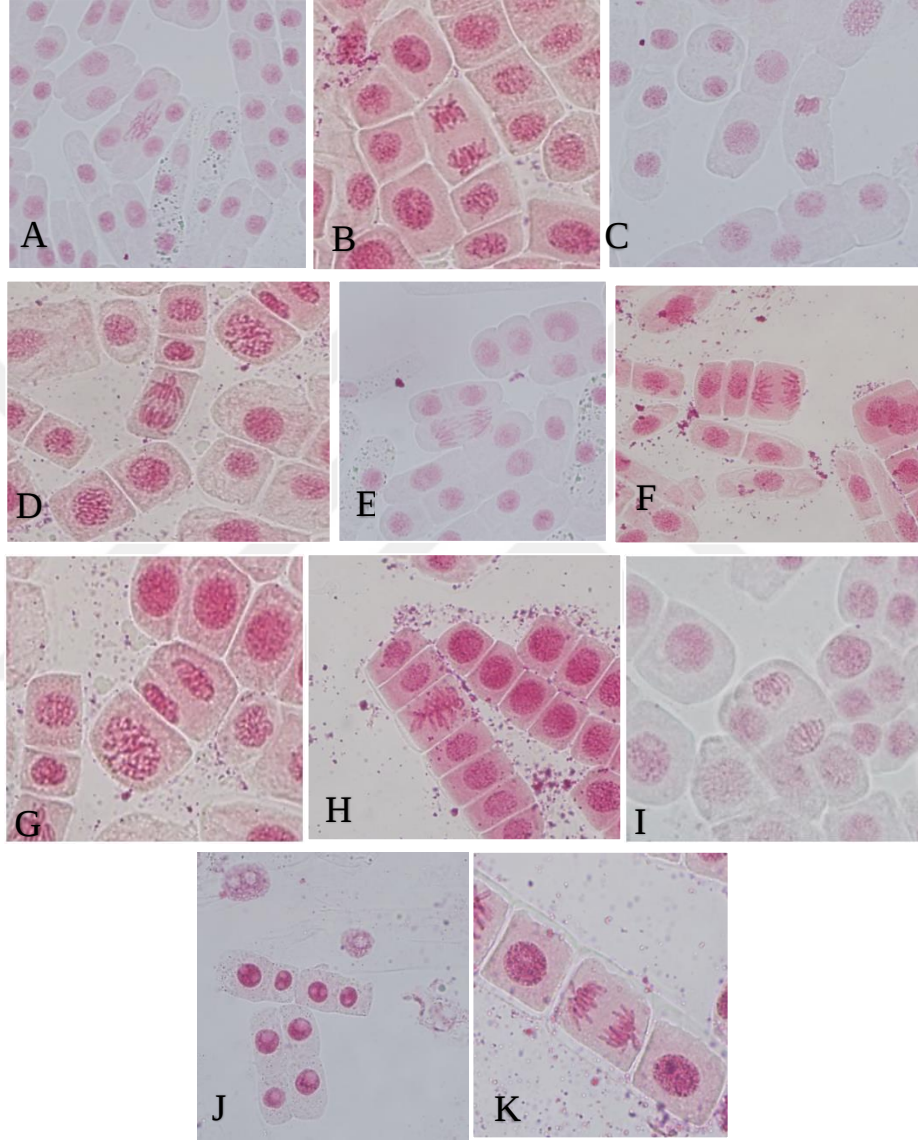
*P. tenella* liken özütü ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanan *A. cepa* kök hücrelerinde gerçekleştirilen komet testi analiz sonuçları, DNA zincir kırıklarına bağlı olarak oluşan kuyruk DNA göçünü göstermektedir. DNA hasarı arttıkça, elektroforez sırasında hücre çekirdeğinden ayrılan DNA fragmentleri daha uzun kuyruk oluşumuna neden olmaktadır. Artan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dozlarına bakıldığında (0,5-200 µM) DNA kuyruk uzunluğunda artış gözlemlenmiştir (Şekil 4.1). Artan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> toksisitesine karşı *P. tenella* liken ekstraktı sabit konsantrasyonda tutulup (100 µg) doz aralığında DNA kuyruk uzunluğunda belirgin bir kısalma belirlenmiştir.



**Şekil 4.1.** *P. tenella* liken özütü ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> artan dozları uygulanan *A. cepa* kök meristem hücrelerinden alınan Komet analizi. Kontrol (A), 0,5 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (B), 1 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (C), 5 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (D), 10 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (E), 25 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (F), 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (G), 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (H), 200 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (I).

#### 4.2. Kromozomal Bozulmanın Tespiti: Asetokarmin Boyama Yöntemi Sonuçları

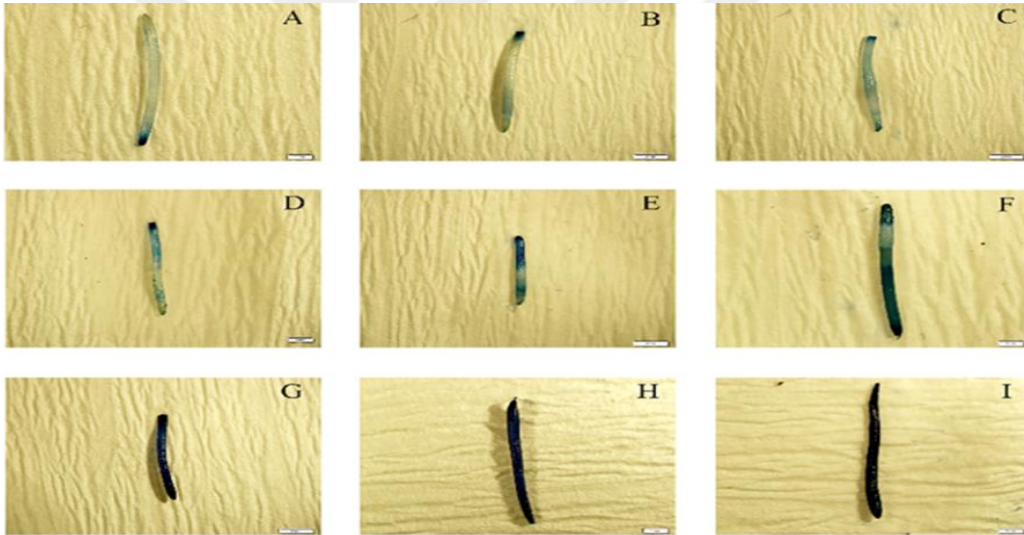
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin artan dozlarında dağınık kromozom, anafazda yapışma, kromozom kayması, kromozom parçaları, kromozom köprüsü, anafazda yapışma, C-mitoz gibi anomaliler çok fazla görülürken artan dozlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve liken uygulanan gruplarda kromozom anomalileri çoklu nükleer lezyon ve kromozom yapışması gibi daha az çeşit anomali tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2.** Artan dozlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanan A. cepa kök meristem hücrelerindeki kromozom anomalisi (A) Dağınık Kromozom, (B) Anafazda Yapışma, (C) Kromozom Kayması, (D) Kromozom Parçaları, (E) Kromozom Köprüsü, (F) Anafazda Yapışma, (G) C-Mitoz, ile artan dozlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve liken uygulanan gruplarda kromozom anomalileri (H) Normal Metafaz, (I) Anafaz, (J) Çoklu Nükleer Lezyon, (K) Kromozom yapışması.

### 4.3. Canlılık Testi Yöntemi Sonuçları

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve *P. tenella* özütü ile muamele edilen gruplar ve kontrol grubu arasında kök hücrelerinin canlılığını karşılaştırmak için canlılık testi uygulanmıştır. Canlılığını yitiren hücreler Evans mavisini yoğun bir şekilde absorbe ederken canlı hücreler çok az veya hiç boyama göstermemiştir. Farklı uygulama dozlarında boyanın hücreler tarafından alınma durumu temel alınarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 'nin neden olduğu *A. cepa* kök meristem hücre ölümü ve *P. tenella* özütünün koruyucu etkisi değerlendirilmiştir. Karşılaştırmalı analiz sonucunda, *P. tenella* özütünün 25 µM'ye kadar olan konsantrasyonlar da hücre canlılığını koruduğu tespit edilmiştir. Ancak, 50 µM ve üzerindeki konsantrasyonlar da boyanma yoğunluğunda belirgin bir artış gözlemlenmiş ve hücrelerin canlılığını kaybettiği görülmüştür. Bu bulgular, *P. tenella* özütünün düşük dozlarda meristematik kök hücreler üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğunu, ancak bu etkinin yüksek dozlarda azaldığını göstermektedir (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** *P. tenella* liken özütü ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dozlarının *A. cepa* kökleri üzerinde histokimyasal boya ile canlılığının gösterilmesi. Kontrol (A), 0,5 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (B), 1 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (C), 5 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (D), 10 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (E), 25 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (F), 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (G), 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (H), 200 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 100 µg *P. tenella* liken özütü uygulanan doz (I).

## 5. TARTIŞMA

Mantarlar ve algler arasındaki simbiyotik ilişkileri ile karakterize edilen likenlerin benzersiz fizyolojisi, daha fazla çalışılması gereken alanlardandır. *P. tenella*, morfolojik ve kimyasal özellikleri sayesinde hem ekolojik hem de biyoteknolojik alanlarda geniş bir uygulama aralığına sahiptir. Özellikle hava kirliliğinin kontrolünde kullanılan bu tür, kükürt dioksit ve azot oksitler gibi gazların belirtilerinde önemli bir araçtır (Sigal ve Nash, 1983).

Yapılan bir çalışmada, *Hypogymnia physodes* likeninin 24 saatlik bir maruz kalma süresi boyunca kadmiyum (Cd) kaynaklı toksisiteye karşı kalsiyumun (Ca) koruyucu rolü araştırılmış ve likenlerin ağır metal stresine karşı metabolik, fizyolojik tepkilerinin ve kalsiyum kanalları ve taşıyıcılarının ağır metal alımını azaltmada rol oynadığını tespit etmişlerdir. Bu çalışma likenlerin oksidatif strese karşı koymak ve metabolik homeostazı korumak için kalsiyum aracılı mekanizmalar kullandığını göstermektedir (Kováčik vd., 2020). İyi bilinen bir reaktif oksijen türü (ROS) olan hidrojen peroksit, hücrel redoks dengesini bozarak oksidatif stresi indükler ve lipid peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna ve DNA hasarına yol açar. *Xanthoria elegans*'tan elde edilen polisakkaritlerin hepatoprotektif potansiyelini, antioksidan aktivitelerine ve oksidatif stres kaynaklı hücrel hasarla mücadeledeki etki mekanizmalarına odaklanarak araştırılmıştır. Karaciğer hastalıklarının tedavisi için bilinen geleneksel bir Çin tıbbi kaynağı olarak *X. elegans*, özellikle biyoaktif polisakkarit fraksiyonları farmakoloji alanında ilgi görmektedir. Bu çalışma, *X. elegans* likeninden elde edilen bir polisakkarit fraksiyonu olan XEP-70'in güçlü antioksidan aktivite sergilediğini ve Nrf2/Keap1/ARE yolağının aktivasyonu yoluyla hepatik stellat hücrelerini oksidatif hasara karşı koruduğu gösterilmiştir (Zhou vd., 2024).

Likenlerin olumsuz koşullarda üretmiş olduğu sekonder metabolitlerin toksik ajanları purifiye ettiği ve azalttığı bilinmektedir. Bunun üzerine yapılan bir çalışmada *Physcia adscendens*'in Cd stresine karşı proteomik tepkisi ortaya konulmuş ve farklı maruziyet dönemlerinde stresle ilişkili proteinlerin dinamik bir şekilde düzenlendiği dinamik ve zamana bağlı bir proteomik adaptasyon yoluyla yanıt verdiği gösterilmiştir. Likenin doğal olarak göstermiş olduğu savunma mekanizması stres toleransı ve detoksifikasyon mekanizmaları arasında bir denge olduğunu yansıtmaktadır. Bu bulgular, likenin ağır metal direncini anlamamıza katkıda bulunmakta ve liken bazlı çevresel izleme ve biyoremediasyon

uygulamalarına yönelik gelecekteki araştırmalar için bir temel sağlamaktadır (Rustichelli vd., 2008).

Yapılan başka bir çalışmada ise Endonezya yapraksı likenleri *Physcia millegrana*, *Parmelia dilatata* ve *Parmelia aurulenta*'dan elde edilen sekonder metabolitlerin sitotoksik potansiyeline ilişkin yeni bilgiler sunulmuştur. Sitotoksisite deneyleri liken sekonder bileşiklerinin kanser hücre hatlarına karşı en yüksek toksisiteyi sergilediğini ortaya koymuştur (Nugraha vd., 2020).

*Ramalina celastri* (usnik asit) ve *Stereocaulon ramulosum* (atranorin ve perlatolik asit karışımı) likenlerinden elde edilen ikincil metabolitlerin aposimbiyotik olarak yetiştirilen fotobiyont *Asterochloris erici* zerindeki fitotoksik etkileri araştırılmıştır. Bulgular, liken sekonder metabolitlerinin sitotoksisite mekanizmalarını ve bunların liken simbiyozu ve iki liken özütü arasında gözlemlenen evre dengesi üzerindeki etkilerini, mikobiyontlar ve fotobiyontlar arasındaki dengeyi düzenlemedeki belirgin rolleri belirlenmiştir. Bu alışma likenlerde bulunan bileşiklerin sitotoksik ve fitotoksik mekanizmalar yoluyla simbiyotik etkileşimleri modüle etme kabiliyeti, dış stres faktörlerine karşı koruyucu ajanlar ve i simbiyozun düzenleyicileri olarak ikili ekolojik işlevlerini vurgulamaktadır. Bu alışma liken sekonder metabolitlerinin fitotoksisitesinin ve likenlerdeki simbiyotik dinamikler üzerindeki etkilerini oksidatif stresi indükleyerek ve metabolik yolları değiştirerek, bu bileşiklerin mikobiyontlar ve fotobiyontlar arasındaki hassas dengenin korunmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Bakor vd., 2024).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> maruziyeti, hücre hatlarında, artan ROS retimi, glutatyon antioksidan sistemindeki bozulmalar, yüksek lipid peroksidasyon seviyeleri ve apoptotik yolakların aktivasyonu ile ortaya konulan ve oksidatif stres aracılı sitotoksisite değerlendirilen bir çalışmada, hidrojen peroksit tarafından indüklenen oksidatif stres bağlamında likenlerden, özellikle *Evernia prunastri* (evernik asit) ve *Usnea ghattensis*'ten (usnik asit) retilen ikincil metabolitlerin sitoprotektif özelliklerini ve antioksidan mekanizmalarını vurgulamaktadır. Bu bulgular, özellikle merkezi sinir sistemi (MSS) benzeri hücre modellerinde oksidatif hasarın azaltılmasında liken metabolitlerinin farmakolojik potansiyeli üzerine giderek artan araştırmalara katkıda bulunmaktadır (Fernndez-Moriano vd., 2017a).

*Cetraria islandica*'dan elde edilen ikincil bir metabolit olan fumarprotocetraric asidin (FUM) nöroprotektif potansiyelini araştırmakta ve glial ve nöronal hücre modellerinde hidrojen peroksit kaynaklı oksidatif strese (OS) karşı antioksidan ve sitoprotektif etkilerini vurgulayan bir çalışmada OS aracılı hücre hasarı azaltmada umut verici bir terapötik ajan olarak FUM'un rolü belirlenmiştir. Hücre hatlarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin sitotoksik etkilerini etkili bir şekilde hafifletmiştir. Optimum konsantrasyonlarda FUM ile ön muamele, oksidatif stresin ayırt edici göstergeleri olan hücre içi ROS birikimini ve lipid peroksidasyonunu azaltarak hücre canlılığını artırmıştır. Bu, doğal redoks modülatörleri olarak hizmet eden likenlerden elde edilen ikincil metabolitlerin güçlü antioksidan özelliklerini vurgulayan bu çalışma, hidrojen peroksit kaynaklı toksik hasar ve liken özütünün koruyucu rolünü desteklemektedir (Fernández-Moriano vd., 2017b).

Bir başka çalışmada, liken türü bir ikincil metabolit olan vulpinik asidin oksidatif stres kaynaklı endotelial hasara karşı potansiyel koruyucu rolünü vurgulamaktadır. Bulgular, vulpinik asidin hidrojen peroksit ile indüklenen sitotoksikiteyi etkili bir şekilde azalttığını ve ateroskleroz gibi oksidatif stresle ilişkili vasküler hastalıklar için terapötik bir ajan olarak potansiyelini ortaya koyduğunu göstermektedir. Bu bulgular liken sekonder metabolitlerinin oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için bir aday olma potansiyelini desteklemektedir (Sahin vd., 2019).

Antarktika likeni *Ramalina terebrata* likeni üzerinde yapılan bir çalışmada likenden izole edilen yeni bir ikincil metabolit olan ramalinin güçlü antioksidan özelliklerini vurgulamaktadır. Bulgular, ramalinin bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), askorbik asit ve kojik asit gibi iyi bilinen antioksidanlardan önemli ölçüde daha yüksek serbest radikal temizleme aktivitesi sergilediğini göstermektedir. Sonuç olarak, bu çalışma ramalini güçlü serbest radikal süpürme aktivitesine ve hücre içi oksidatif stresi azaltmaya sahip güçlü bir antioksidan olarak ortaya koymaktadır. Makrofaj hücrelerindeki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyelerini önemli ölçüde azaltma kabiliyeti likenlerin oksidatif stres ile ilişkili önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir (Paudel vd., 2011).

Likenlerde bulunan sekonder metabolitlerden biri olan usnik asit ile ilgili bir çalışmada, hepatositlerde sitotoksik etki likenlerde bulunan sekonder bir metabolit olan usnik asit ile değerlendirilmiştir. Bu çalışma usnik asidin mitokondriyal disfonksiyonu, oksidatif stres ve

ATP tükenmesini indükleyerek yaygın hepatosit nekrozuna yol açan güçlü bir hepatotoksin olduğunu göstermektedir (Han vd., 2004).

*Allium cepa* test yöntemleri kullanılarak *Cladonia foliacea* (CF) liken ekstresinin hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) kaynaklı toksik etkilere karşı koruyucu potansiyeli incelenmiştir. Artan  $H_2O_2$  konsantrasyonları, mitotik indeksin azalmasına, kromozom aberasyonlarının artmasına ve DNA hasarının şiddetlenmesine neden olmuştur. CF ekstresi uygulaması,  $H_2O_2$ 'nin neden olduğu hücresel ve genotoksik hasarı önemli ölçüde azaltmış, ancak tam koruma sağlayamamıştır. Elde edilen bulgular, CF'nin antioksidan ve koruyucu özelliklerinin, oksidatif stresin etkilerini hafifletmede potansiyel bir rol oynadığını göstermektedir (Pandir vd., 2018).

Bir başka çalışmada, Alfametrinin *A. cepa* kök hücrelerinde DNA hasarı üzerindeki etkilerinin komet testi kullanılarak incelendiği bir çalışmada, artan Alfametrin konsantrasyonlarına bağlı olarak DNA hasarının belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir. Özellikle, kuyruk uzunluğu ve kuyruk DNA yüzdesindeki artış, Alfametrinin genotoksik etkisini açık bir şekilde ortaya koymuştur (Gul vd., 2022). Bir reaktif oksijen türü olan  $H_2O_2$ 'nin oksidatif stresi indüklediği, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı yoluyla hücresel hasara yol açtığı bilinmektedir. Bu çalışmanın genotoksisite sonuçları, *A. cepa* hücrelerinde  $H_2O_2$ 'nin genotoksik potansiyelini ve artan kromozomal anomalileri ortaya koymuştur. Asetokarmin boyama yöntemiyle belirlenen kromozomal sapmalar ve komet testi bulguları, DNA hasarının önemli düzeyde arttığını göstermiştir.  $H_2O_2$  uygulanan hücrelerde kuyruk DNA'sının artan yüzdesi ve kuyruk uzunluğunun çok daha belirgin hale gelmesi, DNA'nın ciddi zarar gördüğünü doğrulamaktadır. Bununla birlikte *P. tenella* ekstraktının uygulanması,  $H_2O_2$  ile indüklenen *A. cepa* kök meristematik hücrelerinde kromozomal sapmaların ve DNA hasarının doza bağlı olarak azaldığını ortaya koymuştur. Bu durum, *P. tenella* özütünün ROS'u nötralize edebilen ve oksidatif hasarı azaltabilen antioksidan özelliklere sahip biyoaktif bileşiklere sahip olabileceğini göstermektedir (Gul vd., 2022).

Hücre canlılığını değerlendirmek amacıyla *A. cepa* kökleri üzerinde Evans mavisi boyama yöntemi kullanılmıştır. Kontrol ve bunların uygulama gruplarına ait 10 milimetre uzunluğundaki kökler, N,N-dimetilformamid içinde işleme tabi tutulmuş ve %0.25 (w/v) Evans mavisi çözeltisi ile boyanmıştır. Ölü hücreler mavi renk alırken, canlı hücreler boyayı almamış ve doğal renklerini korumuştur. Stereo mikroskop altında yapılan gözlemler, artan

toksik etkiye bağlı olarak hücre ölümlerinde belirgin bir artış olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, *A. cepa* test sisteminin hücre canlılığı ve toksisite değerlendirmelerinde etkili bir model olduğunu göstermektedir. Bu  alışma, toksik maddelerin hücresel düzeydeki etkilerinin anlaşılmasına önemli katkı sağlamaktadır (Koç, 2018). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı sitotoksosite, Evans mavisi canlılık testi uygulanarak değerlendirilmiş ve hücrelerin canlılığına dair göstergeler ortaya konmuştur. *P. tenella*  z t  uygulanan hücrelerde likenin koruyucu rolü farklı dozlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> muamele edilen kök meristematik hücrelerinin boyayı absorbe edip etmemesine göre ortaya koyulmuştur. Yüksek dozlarda uygulanan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kök meristematik hücrelerini deforme ederek boyanın tamamını absorbe etmesine neden olmuş ve kökler koyu renkli boyanmıştır. Bu durum, hücrelerin canlılığını kaybettiğini ve yapısal bozuklukların meydana geldiğini göstermektedir. *P. tenella* likeni, farklı doz gruplarında sitotoksositeyi azaltan bir etki göstermiş ve 25  M konsantrasyonuna kadar hücre canlılığını desteklemiştir. 25  M altında test edilen doz gruplarında, köklerin boyayı absorbe etmediği ve beyaz kısımların belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Ancak 50  M, 100  M ve 200  M gibi daha yüksek dozlarda, hücresel canlılığın kaybolduğu ve likenin koruyucu etkisinin ortadan kalktığı belirlenmiştir (Koç, 2018).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması *P. tenella* ekstraktının *A. cepa* kök meristematik hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı sitotoksisite ve genotoksisiteye karşı koruyucu etkilerini araştırmaktır. Elde edilen bulgular *P. tenella* ekstraktının H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı toksikolojik değişikliklere karşı koruyucu rolünü belirli dozlarda ortaya koymaktadır.

Bu bulgular bir araya getirildiğinde, *P. tenella* ekstraktının belirli dozlarda sitotoksisite ve genotoksisiteyi azaltıcı bir etkiye sahip olduğu, ancak yüksek dozlarda koruyucu etkisinin ortadan kalktığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle, *P. tenella*'nın biyoaktif bileşiklerinin daha detaylı bir biokimyasal analizle incelenmesi ve bu bileşiklerin doza bağlı etkinlik mekanizmalarının açığa çıkarılması gerekmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, doğal antioksidan kaynaklarının oksidatif stresle ilişkili zararları azaltma potansiyelini vurgulayarak gelecekteki farmakolojik ve toksikolojik araştırmalar için önemli bir temel oluşturmaktadır.

## 7. KAYNAKLAR

- Ahmadjian, V. (1993). *The lichen symbiosis*. John Wiley ve Sons.
- Ahmadjian, V. (1995). Lichens are more important than you think. *BioScience*, 45(3), 124.
- Ajila, C. M., & Rao, U. P. (2008). Protection against hydrogen peroxide induced oxidative damage in rat erythrocytes by *Mangifera indica* L. peel extract. *Food and Chemical Toxicology*, 46(1), 303-309.
- Ajila, C. M., & Rao, U. P. (2008). Protection against hydrogen peroxide induced oxidative damage in rat erythrocytes by *Mangifera indica* L. peel extract. *Food and Chemical Toxicology*, 46(1), 303-309.
- Bačkor, M., Kecsey, D., Drábová, B., Urminská, D., Šemeláková, M. & Goga, M. (2024). Avustralya Likenleri *Ramalina celastri* ve *Stereocaulon ramulosum*'dan İkincil Metabolitler, Allelopati yoluyla Fotobiyont *Asterochloris erici*'nin Büyümesini ve Metabolizmasını Etkiler. *Moleküller*, 29 (19), 4620.
- Bhagarathi, L. K., DaSilva, P. N., Subramanian, G., Maharaj, G., Kalika-Singh, S., & Pestano, F. (2023). An integrative review of the biology and chemistry of lichens and their ecological, ethnopharmacological, pharmaceutical and therapeutic potential. *GSC Biol Pharm Sci*, 23, 092-119.
- Bianchi, J., Fernandes, T. C. C., & Marin-Morales, M. A. (2016). Induction of mitotic and chromosomal abnormalities on *Allium cepa* cells by pesticides imidacloprid and sulfentrazone and the mixture of them. *Chemosphere*, 144, 475-483.
- Blanco, O., Crespo, A., Ree, R. H., & Lumbsch, H. T. (2006). Major clades of parmelioid lichens (*Parmeliaceae*, *Ascomycota*) and the evolution of their morphological and chemical diversity. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39(1), 52-69.
- Brodo, I. M., Sharnoff, S. D., & Sharnoff, S. (2001). *Lichens of north America*. Yale University Press.
- Cantoni, O., Fumo, M., & Cattabeni, F. (1989). Role of metal ions in oxidant cell injury. *Biological Trace Element Research*, 21, 277-281.

- Conti, M. E., & Tudino, M. B. (2016). Lichens as biomonitors of heavy-metal pollution. In *Comprehensive analytical chemistry (Vol. 73, pp. 117-145)*. Elsevier.
- Culberson, C. F. (1972). Improved conditions and new data for identification of lichen products by standardized thin-layer chromatographic method. *Journal of Chromatography A*, 72(1), 113-125.
- Dayan, F. E., & Romagni, J. G. (2001). Lichens as a potential source of pesticides. *Pesticide Outlook*, 12(6), 229-232.
- Demmig-Adams, B., Adams, W. W., Czygan, F. C., Schreiber, U., & Lange, O. L. (1990). Differences in the capacity for radiationless energy dissipation in the photochemical apparatus of green and blue-green algal lichens associated with differences in carotenoid composition. *Planta*, 180, 582-589.
- Dresler, S., Kováčik, J., Wójciak, H., Sowa, I., Strzemiński, M., & Wójciak, M. (2021). Allantoin content in lichens depends on anthropopressure level. *Ecological Indicators*, 124, 107312.
- Edwards, B. W., & Coppins, B. J. (2009). *Physcia (Schreb.) Michx.(1803). The lichens of Great Britain and Ireland. British Lichen Society, London*, 698-703.
- Fernández-Moriano, C., Divakar, P. K., Crespo, A., & Gómez-Serranillos, M. P. (2017). In vitro neuroprotective potential of lichen metabolite fumarprotocetraric acid via intracellular redox modulation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 316, 83-94.
- Fernández-Moriano, C., Divakar, PK, Crespo, A., & Gómez-Serranillos, MP (2017). Lichen metabolitleri olan evernik ve usnik asitlerin merkezi sinir sistemi benzeri hücrelerde redoks bozulması kaynaklı sitotoksositeye karşı koruyucu etkileri. *Gıda ve Kimyasal Toksikoloji*, 105, 262-277.
- Fiskesjö, G. (1985). The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102(1), 99-112.
- Gadano, A., Gurni, A., López, P., Ferraro, G., & Carballo, M. (2002). In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(1), 11-16.

- Gechev, T. S., & Hille, J. (2005). Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *Journal of Cell Biology*, 168(1), 17-20.
- Goyal, R., Singh, O., Agrawal, A., Samanta, C., & Sarkar, B. (2022). Advantages and limitations of catalytic oxidation with hydrogen peroxide: from bulk chemicals to lab scale process. *Catalysis Reviews*, 64(2), 229-285.
- Gül, D., Öz, B., Ahu, E. B., Bekdemir, F. O., Demirbağ, A., & Pandır, D., (2022). Determination of the Toxic Effects of Alfamethrin on *Allium cepa* Stem Cells. Ankara International Congress on Scientific Research-VI, Ankara, Turkey.
- Grant, W. F. (1982). Chromosome aberration assays in Allium: A report of the US Environmental Protection Agency gene-tox program. *Mutation Research/Reviews in genetic toxicology*, 99(3), 273-291.
- Hale Jr, M. E. (1990). A synopsis of the lichen genus Xanthoparmelia (Vainio) Hale (Ascomycotina, Parmeliaceae). *Smithsonian contributions to botany*.
- Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*, 141(2), 312-322.
- Halliwell, B., Clement, M. V., & Long, L. H. (2000). Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS letters*, 486(1), 10-13.
- Hodkinson, BP, & Lutzoni, F. (2009). Likenle ilişkili bakterilerin mikrobiyotik bir araştırması Rhizobiales'ten yeni bir soy ortaya koyuyor. *Symbiosis*, 49, 163-180.
- Han, D., Matsumaru, K., Rettori, D., & Kaplowitz, N. (2004). Utric acid-induced necrosis of cultured mouse hepatocytes: inhibition of mitochondrial function and oxidative stress. *Biochemical pharmacology*, 67(3), 439-451.
- Jacyn Baker, C., & Mock, N. M. (1994). An improved method for monitoring cell death in cell suspension and leaf disc assays using Evans blue. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 39, 7-12.
- Jaganjac, M., Cindrić, M., Jakovčević, A., Žarković, K., & Žarković, N. (2021). Lipid peroxidation in brain tumors. *Neurochemistry international*, 149, 105118.

- Kachinskaya, V. V. (2015). Influence Of Mining And Metal Industry On Physcia Lichens. *Ukrainian Journal of Ecology*, 5(1), 61.
- Koç, K. Brilliant blue ve sunset yellowun *Allium cepa* L. kök ucu meristem hücreleri üzerine toksik etkileri (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Kiliç Yayla, S., Kocakaya, Z., Karatoprak, G. Ş., İlğün, S., & Ceylan, A. (2023). Analyzing the Impact of Ramalina digitellata, R. fastigiata, R. fraxinea, and R. polymorpha's Usnic Acid Concentration on Antioxidant, DNA-Protective, Antimicrobial, and Cytotoxic Properties. *Chemistry & Biodiversity*, 20(1), e202200816.
- Kotha, R. R., Tareq, F. S., Yildiz, E., & Luthria, D. L. (2022). Oxidative stress and antioxidants—A critical review on in vitro antioxidant assays. *Antioxidants*, 11(12), 2388.
- Kocakaya, Z., Karatoprak, G. Ş., İlğün, S., & Ceylan, A. (2022). Analyzing the impact of Ramalina digitellata, R. fastigiata, R. fraxinea, and R. polymorpha's usnic acid concentration on antioxidant, DNA-protective, antimicrobial, and cytotoxic properties. *Chemistry & Biodiversity*.
- Kováčik, J., Dresler, S., Babula, P., Hladký, J., & Sowa, I. (2020). Calcium has protective impact on cadmium-induced toxicity in lichens. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 591-599.
- Krishnamurthy, K. V., & Upreti, D. K. (2001). Reproductive biology of lichens. In *Reproductive biology of*
- Kwon, M., Kim, S., Yoon, Y., Jung, Y., Hwang, T. M., Lee, J., & Kang, J. W. (2015). Comparative evaluation of ibuprofen removal by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and UV/S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> processes for wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 269, 379-390.
- Lennon, SV, Martin, SJ & Cotter, TG (1991). Yaygın olarak farklılaşan uyaranlar tarafından insan tümör hücre hatlarında apoptozun doz bağımlı indüksiyonu. *Hücre çoğalması*, 24 (2), 203-214.
- Lücking, R., & Bernecker-Lücking, A. (2002). Distance, dynamics, and diversity in tropical rainforests: an experimental approach using foliicolous lichens on artificial leaves. I. Growth performance and succession.

- Nash, T. H. (Ed.). (1996). *Lichen biology*. Cambridge University Press.
- Nugraha, A. S., Laksono, T. A., Firli, L. N., Putri, C. P. Z. S., Pratoko, D. K., Zulfikar, Z., & Keller, P. A. (2020). Anti-cancer evaluation of depsides isolated from indonesian folious lichens: *Physcia millegrana*, *Parmelia dilatata* and *Parmelia aurulenta*. *Biomolecules*, 10(10), 1420.
- Øvstedal, D. O., & Smith, R. L. (2001). *Lichens of Antarctica and South Georgia: a guide to their identification and ecology*. Cambridge University Press.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., & Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
- Özkan, D., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S., & Aksoy, H. (2009). Evaluation of the cytogenetic damage induced by the organophosphorous insecticide acephate. *Cytotechnology*, 59, 73-80.
- Pandır, D., Hilooğlu, M., & Kocakaya, M. (2018). Assessment of anticytotoxic effect of lichen *Cladonia foliacea* extract on *Allium cepa* root tips. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 32478-32490.
- Paudel, B., Bhattarai, H. D., Koh, H. Y., Lee, S. G., Han, S. J., Lee, H. K., & Yim, J. H. (2011). Ramalin, a novel nontoxic antioxidant compound from the Antarctic lichen *Ramalina terebrata*. *Phytomedicine*, 18(14), 1285-1290.
- Piatnytskyi, D. V., & Volkov, S. N. (2023). Complexes of hydrogen peroxide molecules with DNA nucleic bases. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 41(24), 15003-15008.
- Pignata, M. L., Plá, R. R., Jasan, R. C., Martínez, M. S., Rodriguez, J. H., Wannaz, E. D & Gonzalez, C. M. (2007). Distribution of atmospheric trace elements and assesment of air quality in Argentina employing the lichen, *Ramalina celastri*, as a passive biomonitor: detection of air pollution emission sources. *International Journal of Environment and Health*, 1(1), 29-46.

- Plaine, H. L. (1955). The effect of oxygen and of hydrogen peroxide on the action of a specific gene and on tumor induction in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 40(2), 268.
- Printzen, C. (2009). Lichen systematics: the role of morphological and molecular data to reconstruct phylogenetic relationships. *In Progress in Botany 71* (pp. 233-275). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Purvis, O. W., James, P. W., Holtan-Hartwig, J., Timdal, E., Clayden, S. C., Coppins, B. J. & Moore, D. M. (1992). *Rhizocarpon* Lam. ex DC.(1805). The lichen flora of Great Britain and Ireland, 531-542.
- Purvis, O. W. (1992). The lichen flora of Great Britain and Ireland. (*No Title*).
- Rustichelli, C., Visioli, G., Kostecka, D., Vurro, E., di Toppi, L. S., ve Marmioli, N. (2008). Proteomic analysis in the lichen *Physcia adscendens* exposed to cadmium stress. *Environmental Pollution*, 156(3), 1121-1127.
- Sahin, E., Dabagoglu Psav, S., Avan, I., Candan, M., Sahinturk, V., & Koparal, A. T. (2019). Vulpinic acid, a lichen metabolite, emerges as a potential drug candidate in the therapy of oxidative stress-related diseases, such as atherosclerosis. *Human & Experimental Toxicology*, 38(6), 675-684.
- Sen, A., & Imlay, J. A. (2021). How microbes defend themselves from incoming hydrogen peroxide. *Frontiers in immunology*, 12, 667343.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of botany*, 2012(1), 217037.
- Sigal, L. L., & Nash III, T. H. (1983). Lichen communities on conifers in southern California mountains: an ecological survey relative to oxidant air pollution [Effects of smog]. *Ecology: a publication of the Ecological Society of America*, 64.
- Soodan, R. K., Katnoria, J. K., Bhardwaj, R., Pakade, Y. B., & Nagpal, A. (2015). Assessment of oxidative stress and genotoxicity in *Allium cepa* exposed to soils from rice fields. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(8), 542-555.

- Tedesco, S., & Laughinghouse IV, H. (2012). Bioindicator of genotoxicity: the *Allium cepa* test. 978-953-51-0120-8.
- Tkachuk, N., & Zelena, L. (2022). An onion (*Allium cepa* L.) as a test plant.
- Zhou, Z., Li, G., Gao, L., Zhou, Y., Xiao, Y., Bi, H., & Yang, H. (2024). Lichen pectin-containing polysaccharide from *Xanthoria elegans* and its ability to effectively protect LX-2 cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 265, Sigal, L. L., & Nash III, T. H. (1983). Lichen communities on conifers in southern California mountains: an ecological survey relative to oxidant air pollution. *Ecology*, 64(6), 1343-1354.

